



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類7 A01N 63/00, 63/02</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO00/49875</p> <p>(43) 国際公開日 2000年8月31日 (31.08.00)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP00/01002</p> <p>(22) 国際出願日 2000年2月22日 (22.02.00)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平11/45062 1999年2月23日 (23.02.99) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 呉羽化学工業株式会社 (KUREHA CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD.) [JP/JP] 〒103-8552 東京都中央区日本橋堀留町1丁目9番11号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 堅石秀明 (TATEISHI, Hideaki) [JP/JP] 〒970-8035 福島県いわき市明治団地30-9 Fukushima, (JP)</p> <p>(74) 代理人 藤野清也 (FUJINO, Seiya) 〒160-0004 東京都新宿区四谷1丁目2番1号 三浜ビル8階 Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54) Title: PLANT DISEASE CONTROL METHOD</p> <p>(54) 発明の名称 植物病害の防除方法</p> <p>(57) Abstract A method for controlling plant diseases characterized by treating plant seeds or soil with an antagonistic bacterium <i>Bacillus subtilis</i> KB-1111 strain (FERM BP-1738) and/or <i>Bacillus subtilis</i> sp. KB-1122 strain (FERM BP-1739). By using this method, it is possible to control disease injury caused by bacteria and fungi inhabiting the soil which can be hardly controlled by foliage application. Also, the growth of plants can be promoted thereby.</p>		

(57)要約

本発明は、拮抗細菌であるバチルス ズブチルス sp. KB-1111 (Bacillus subtilis KB-1111) 株 (FERM BP-1738) 及び／またはバチルス ズブチルス sp. KB-1122 (Bacillus subtilis KB-1122) 株 (FERM BP-1739) を植物種子または土壌に処理することを特徴とする植物病害の防除方法を提供する。本発明によれば、茎葉処理では防除困難な土壌中に存在する細菌糸状菌による病害を防除することが可能であり、また植物の生長を促進する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	RU ロシア
AG アンティグア・バーブーダ	DZ アルジェリア	LC セントルシア	SD スーダン
AL アルバニア	EE エストニア	LI リヒテンシュタイン	SE スウェーデン
AM アルメニア	ES スペイン	LK スリ・ランカ	SG シンガポール
AT オーストリア	FI フィンランド	LR リベリア	SI スロヴェニア
AU オーストラリア	FR フランス	LS レント	SK スロヴァキア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LT リトアニア	SL シエラ・レオネ
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LU ルクセンブルグ	SN セネガル
BB バルバドス	GD グレナダ	LV ラトヴィア	SZ スワジランド
BE ベルギー	GE グルジア	MA モロッコ	TD チャード
BF ブルキナ・ファソ	GH ガーナ	MC モナコ	TG トーゴ
BG ブルガリア	GM ガンビア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BJ ベナン	GN ギニア	MG マダガスカル	TM トルクメニスタン
BR ブラジル	GR ギリシャ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR トルコ
BY ベラルーシ	GW ギニア・ビサウ	共和国	TT トリニダード・トバゴ
CA カナダ	HR クロアチア	ML マリ	TZ タンザニア
CC 中央アフリカ	HU ハンガリー	MN モンゴル	UA ウクライナ
CG コンゴ	ID インドネシア	MR モーリタニア	UG ウガンダ
CH スイス	IE アイルランド	MW マラウイ	US 米国
CI コートジボアール	IL イスラエル	MX メキシコ	UZ ウズベキスタン
CM カメルーン	IN インド	MZ モザンビーク	VN ヲトナム
CN 中国	IS アイスランド	NE ニジェール	YU ユーゴスラヴィア
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NL オランダ	ZA 南アフリカ共和国
CU キューバ	JP 日本	NO ノールウェー	ZW ジンバブエ
CY キプロス	KE ケニア	NZ ニュー・ジーランド	
CZ チェッコ	KG キルギスタン	PL ポーランド	
DE ドイツ	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
DK デンマーク	KR 韓国	RO ルーマニア	

明 細 書

植物病害の防除方法

技術分野

本発明は、植物に発生する病害を拮抗作用により防除できる細菌を有効成分として、土壤中に存在する細菌による植物病害の防除方法、及び植物生長促進方法に関する。

背景技術

作物に発生する土壤病害としては代表的にPythium菌、Rhizoctonia菌、Fusarium菌による立枯病、Ralstonia solanacearum菌による青枯病等が挙げられる。これらの病害の防除には種子消毒剤、土壤混和剤、土壤灌注剤が有効であるとされ、これら薬剤を単独あるいは組合せによる体系使用が行われている。しかし、これら化学薬剤の防除効果は必ずしも高く安定しているとはいえず、また化学薬剤を土壤中に大量に投与することによる土壤生物叢破壊や環境に与える影響が懸念されている。生産現場ではこれら病害の対策に苦慮しており、環境への負荷が少ない農薬や防除方法の開発が望まれている。

また、微生物により植物の病害を抑制防除するための拮抗作用を有する細菌が見だされている。例えば、特許第2673718号公報にはバチルス ズブチルス sp. KB-1111 (Bacillus subtilis KB-1111) 株及びバチルス ズブチルス sp. KB-1122 (Bacillus subtilis KB-1122) 株を野菜に散布することによって病害を防除することが記載されている。

本発明者らは、上記公報に記載されたこれら細菌を野菜に散布することでは防除困難な病害である土壤中に存在する細菌による病害に対し防除効果の高い生物防除処理の探索を課題として研究し、拮抗細菌を植物種子または土壤に処理する本発明を完成するに至った。

発明の開示

本発明は、上記したように、茎葉処理では防除困難な土壤病害を防除するこ

とを課題として研究した結果なされたものであって、作物に発生する土壌病害の病原菌に拮抗作用を有する細菌である Bacillus subtilis KB-1111株または／および Bacillus subtilis KB-1122 株を植物種子に処理、または土壌処理することを特徴とする植物病害の防除方法を提供する。本発明によれば茎葉処理では得られない病害防除効果および植物生長促進効果が得られる。

発明を実施するための最良の形態

本発明に用いるKB-1111 菌およびKB-1122 菌の菌学的性質は下記の通りである。

KB-1111 菌

a) 形態

- | | |
|-------------|-----|
| (1) 形および大きさ | 桿菌 |
| (2) 多形性 | 単一 |
| (3) 運動性とべん毛 | 有り |
| (4) 胞子の有無 | 有り |
| 胞子の形 | 卵円形 |
| 胞子の形成部位 | 中心 |
| (5) グラム染色性 | 陽性 |
| (6) 抗酸性 | 無し |

b) 生育状況

(1) 肉汁寒天平板培養 コロニーは灰色かクリーム色、光沢少々有り、円形で大きさは直径2 ～4mm、集落隆起形は中凹、周縁形は波状、粘性あり。

(2) 肉汁寒天斜面 培地表面に広がって増殖し、色は灰白色で光沢少々有り、粘性あり、拡散性色素はなし。

(3) 肉汁液体培地 1 ～2 日目で培地表面に菌膜をつくり全体を覆う。混濁なく、菌体は灰白色。

(4) ばれいしょ切片 拡散性で皺状の灰白色のコロニー。

(5) 肉汁ゼラチン穿刺培養 20℃、30℃で培養すると液化が始まる。その形

は層状。

c) 生理学的性質	テストの方法	
1) 硝酸塩の還元	硝酸塩肉汁	有り
2) 脱窒反応	駒形らの方法	無し
3) MR		陰性
4) VP		陽性
5) インドールの生成		無し
6) 硫化水素の生成	TSI寒天	無し
	酢酸塩試験紙を用いる方法 肉汁	無し
	運動性検査用培地	無し
7) クエン酸の利用		
	Koser citrate medium	有り
	Christensen agar	有り
8) デンプンの分解		陽性
9) 色素の生成	じゃがいも切片	無し
10) 無機窒素源の利用試験		
	硫酸アンモニウム	有り
	硝酸ナトリウム	無し
	グルタミン酸ソーダ	有り
	カザミノ酸 v.free	有り
11) ウレアーゼ	Christensen 尿素培地	有り
12) オキシダーゼ		陽性
13)カタラーゼ		陽性
14) カゼインの分解	カゼイン2 %寒天	有り
15) リトマスミルク	ペプトン化と色素還元	有り
16) LV寒天		有り
17) ブドウ糖肉汁の嫌気性発育		無し
18) 生育の範囲 (肉汁培地)		

45℃における発育	有り
65℃における発育	無し
pH5 ～9 における発育	有り
7. %NaClにおける発育	有り
19) リゾチーム感受性 0.001% ブドウ糖 肉汁	有り
20) 糖から酸の生成(○ : 陽性、×: 陰性)	
グルコース	○
シュクロース	○
マンノース	○
グリセリン	○
ソルビット	○
フラクトース	○
マンニット	○
キシロース	○
アラビノース	○
デンプン	○
ラクトース	○
麦芽糖	○
イノシット	○
トレハロース	○
ガラクトース	×
ラフィノース	○
21) アジ化ナトリウム0.02% 生育 ブイヨン	無し
22) チロシンの分解 チロシン寒天	無し

KB-1122 菌

a) 形態

(1) 形および大きさ 桿菌(両端丸みあり)

- | | |
|-------------|-----|
| (2) 多形性 | 単一 |
| (3) 運動性とべん毛 | 有り |
| (4) 胞子の有無 | 有り |
| 胞子の形 | 卵円形 |
| 胞子の形成部位 | 中心 |
| (5) グラム染色性 | 陽性 |
| (6) 抗酸性 | 無し |

b) 生育状況

(1) 肉汁寒天平板培養 コロニーは灰色かクリーム色、光沢なく不正円形で大きさは直径2～6mm、隆起形で、周縁形は波状。

(2) 肉汁寒天斜面 培地表面に広がって増殖し、色は灰白色かクリーム色、拡散性はなし。

(3) 肉汁液体培地 1～2日目で培地表面に菌膜をつくり全体を覆う。混濁なく、菌体は灰白色。

(4) ばれいしょ切片 拡散性で皺状の灰白色のコロニー。

(5) 肉汁ゼラチン穿刺培養 20℃、30℃で培養すると液化が始まる。その形は層状。

c) 生理学的性質 テストの方法

- | | | |
|-------------|----------------------|----|
| 1) 硝酸塩の還元 | 硝酸塩肉汁 | 有り |
| 2) 脱窒反応 | 駒形らの方法 | 無し |
| 3) MR | | 陰性 |
| 4) VP | | 陽性 |
| 5) インドールの生成 | | 無し |
| 6) 硫化水素の生成 | TSI寒天 | 無し |
| | 酢酸塩試験紙を用いる方法 肉汁 | 有り |
| | 運動性検査用培地 | 無し |
| 7) クエン酸の利用 | | |
| | Koser citrate medium | 有り |

Christensen agar	有り
8) デンプンの分解	陽性
9) 色素の生成 ジャがいも切片	無し
10) 無機窒素源の利用試験	
硫酸アンモニウム	有り
硝酸ナトリウム	有り
グルタミン酸ソーダ	有り
カザミノ酸 v.free	有り
11) ウレアーゼ Christensen 尿素培地	有り
12) オキシダーゼ	陽性
13) カタラーゼ	陽性
14) カゼインの分解 カゼイン2 %寒天	有り
15) リトマスミルク ペプトン化と色素還元	有り
16) LV 寒天	有り
17) ブドウ糖肉汁の嫌気性発育	無し
18) 生育の範囲 (肉汁培地)	
45℃における発育	有り
65℃における発育	無し
pH5 ~9 における発育	有り
7 %NaClにおける発育	有り
19) リゾチーム感受性 0.001% ブドウ糖 肉汁	有り
20) 糖から酸の生成 (○ : 陽性、× : 陰性)	
グルコース	○
シュクロース	○
マンノース	○
グリセリン	○
ソルビット	○
フラクトース	○

マンニット	○
キシロース	○
アラビノース	○
デンプン	○
ラクトース	○
麦芽糖	○
イノシット	○
トレハロース	○
ガラクトース	○
ラフィノース	×
21) アジ化ナトリウム0.02% 生育	ブイヨン 無し
22) チロシンの分解	チロシン寒天 無し

以上の菌学的性質からバーギーズ マニュアル(Bergey's manual of systematic bacteriology)を参照して同定を行った結果、2菌株ともにバチルス ズブチルス (*Bacillus subtilis*) に属する菌株と同定された。KB-1111 菌およびKB-1122 菌はそれぞれFERM BP-1738、FERM BP-1739として日本国茨城県つくば市東1丁目1番3号現通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所(旧通商産業省工業技術院微生物工業技術研究所)に寄託されている。

KB-1111、菌およびKB-1122 菌の培養条件は、上記特許公報に詳細に記載されているように発酵学の分野で公知の常法に従って行うことができる。

本発明の拮抗細菌が種子処理または土壌処理して有効な病害としてはトマト、ナス、ジャガイモの青枯病 (*Ralsotonia solanacearum*)、ダイコン、ハクサイ、キャベツ、タマネギ、コンニャクの軟腐病 (*Erwinia carotovora*)、果樹の根頭癌腫病 (*Agrobacterium tumefaciencie*)、ジャガイモ、ダイコンのそうか病 (*Streptomyces* sp.)、野菜類、イネの *Pythium* 菌、*Rhizoctonia* 菌、*Fusarium* 菌による苗立枯病、アブラナ科野菜の根こぶ病 (*Plasmodiophora brassicae*)、ワタの苗立枯病 (*Pythium* 菌、*Rhizoctonia* 菌、*Fusarium* 菌、*Gloeos*

porium菌)、トウモロコシの苗立枯病及び根腐病(Pythium 菌、Fusarium菌、Penicillium菌)、大豆の立枯病(Fusarium菌)、麦類の立枯病(Gaeumannomyces graminis)等が挙げられる。これら病害は茎葉処理では防除困難な病害であって、薬剤の種子処理または土壌処理による防除が行われている。本発明で抗菌細菌として用いるKB-1111 菌およびKB-1122 菌は、これら細菌の懸濁液を植物種子に粉衣、吹き付け、塗沫または種子をこれらの細菌の懸濁液に浸漬することにより、あるいはこれらの細菌の懸濁液もしくはこれらの菌体を土壌に灌注混和することにより行うことができる。細菌の懸濁液の適当な濃度は上記した施用法により異なるが、例えばキュウリ種子を浸漬処理する場合には、これらの細菌の濃度として $1 \times 10^{11} \sim 1 \times 10^2$ /ml、好ましくは $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^5$ /mlで、 $5^\circ\text{C} \sim 40^\circ\text{C}$ 、好ましくは $15^\circ\text{C} \sim 30^\circ\text{C}$ で、1～2日程度行う。例えばこれらの細菌懸濁液もしくはこれら菌体を土壌に灌注混和する場合は、これらの細菌を $1 \times 10^{11} \sim 1 \times 10^2$ /ml、好ましくは $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^3$ /ml含む懸濁液を1平方メートル当たり10リットルから1000ml、好ましくは5リットルから500mlを育苗土壌に灌注混和する。またこの灌注混和土壌を覆土として用いてもよい。これらの実施例において懸濁液は培養菌液でもよく、また培養菌液より遠心分離などにより培地を除去し、菌体を水または生理食塩水、緩衝液等に再懸濁したものでよい。また、菌体を直接または適当な分散媒を用いて凍結乾燥などによって安定に保存した細菌を再懸濁した液を用いることもできる。

本発明は、上記の拮抗細菌をそのまま懸濁液として使用してもよいが、例えば固体担体、液体担体等の各種担体と混合し、必要な場合には添加剤、その他の製剤助剤を加えて、水和剤、懸濁剤、粉剤、粒剤、糊状剤、マイクロカプセル剤に調製した製剤として使用することができる。

製剤化の際に用いる固体担体としては、例えばカオリンクレー、パイロフィライト、ベントナイト、モンモリロナイト、珪藻土、酸性白土、バーミキュライト、パーライトなどの鉱物質担体、硫酸アンモニウム、リン酸アンモニウム、硝酸アンモニウム、尿素、塩化アンモニウム、炭酸カルシウムなどの無機塩

を用いることができる。また、小麦粉、フスマ、米ぬかなどの有機微粉末も用いることができる。液体担体としては大豆油、綿実油などの植物油、グリセロール、エチレングリコール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、ポリプロピレングリコール等が挙げられる。

固着剤や分散剤等の製剤としては、カゼイン、ゼラチン、澱粉、アラビアガム、アルギン酸、セルロース誘導体などの多糖類、リグニン誘導体、糖類、植物油、鉱物油、合成水溶性高分子が挙げられる。

その他、製剤用補助剤として凍結防止剤、消泡剤、増粘剤等を必要に応じて用いることができる。

また、本発明の拮抗細菌は糸状菌病害を対象とした種子消毒剤または散布剤との混用が可能である。例えば、イブコナゾール、メトコナゾール、ペフラゾエート、トリフルミゾール、プロクロラズ、テブコナゾール、ジフェノコナゾール、フルジオキシニル、ベノミル、チオファネートメチル、フサライド、トリシクラゾール、ピロキロン、カルプロパミド、フェリムゾン、イソプロチオラン、EDDP、イミノクタジン酢酸塩、イミノクタジンアルベシル酸塩、カルボキシニンなどが挙げられる。

さらに、殺虫剤、殺線虫剤、殺ダニ剤、殺菌剤、除草剤、植物成長調節剤、共力剤等と混合し、または混合せずに同時に用いることもできる。

本発明にかかわるKB-1111 菌およびKB-1122 菌を製剤化するには、これらの細菌（重量として）を通常約0.01～95重量％含有させる。また製剤1 g当たり約 10^3 ～約 10^{11} のコロニー形成単位含有させることが好ましい。

本発明方法によれば、本発明のKB-1111 株又は／およびKB-1122 株を有効成分として植物の種子処理または土壌処理に用いることにより、土壌病害を防除でき、かつ植物の生長を促進させることができる。また、土壌生物叢破壊や環境に与える影響が少ない。

以下、製剤例、試験例を挙げて本発明を説明する。

〔製剤例〕

拮抗細菌であるKB-1111 菌およびKB-1122 菌を適当な液体培地で振とう培養

後、遠心分離して培地成分を除去し、カオリンクレーと水または適当な緩衝液を加えて再懸濁し、リグニンスルホン酸ナトリウム5 %の割合でよく混合し凍結乾燥する。これを乳鉢中で穏やかに粉碎し、水和剤形式の製剤を得る。

〔試験例1〕

キュウリつる割病に対する防除効果

キュウリつる割病(*Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerum*) の小分生子懸濁液を市販の園芸用粒状培土(商品名: くみあい粒状培土, 呉羽化学(株)製)に1 gあたり 2×10^6 個の胞子を含むように汚染土壌を調製した。キュウリの種子に上記製剤を種子重量の0.5 %にあたる量を粉衣し、汚染土壌に播種、覆土後、温室内で生育させた。播種後20日目に発病指数を次の基準で調査した。試験は1区につきキュウリ15個体を供試し、平均発病指数を求めた。結果を表1に示す。

0: 無発病、1: 茎部に褐変が見られる、2: 植物体に萎縮、褐変、褪色が見られる、3: 立枯状態、4: 発芽後枯死

〔表1〕

各拮抗細菌のキュウリつる割病に対する防除効果

処理区					平均発病指数
無処理					4.0
<u>Bacillus</u>	<u>subtilis</u>	KB-1111 株	0.5 %粉衣		0.8
<u>Bacillus</u>	<u>subtilis</u>	KB-1122 株	0.5 %粉衣		0.8

〔試験例2〕

トウモロコシの生長促進効果

トウモロコシの種子に上記製剤を種子重量の0.5 %にあたる量を粉衣し、畑土に適度な肥料を混和した土壌を詰めた1/5000 aポットに1粒ずつ播種した。その後、温室内で生育させた。播種後30日目に成長の状況を次の基準で調査した。試験は1区につきトウモロコシ5個体を供試し、平均指数を求

めた。結果を表 2 に示す。

1 : 無処理区より 20 % 以上草丈が低く、葉も小さい、2 : 無処理区より 10 ~ 20 % 草丈が低く、葉も小さい、3 : 無処理区と同等、4 : 無処理区より 10 ~ 20 % 草丈が高く、葉もやや大きい、5 : 無処理区より 20 % 草丈が高く、葉も大きい。

〔表 2〕

各拮抗細菌のトウモロコシに対する生長促進効果

処理区					平均生長指数
無処理					3.0
<u>Bacillus</u>	<u>subtilis</u>	KB-1111 株	0.5 % 粉衣		4.5
<u>Bacillus</u>	<u>subtilis</u>	KB-1122 株	0.5 % 粉衣		4.0

産業上の利用の可能性

本発明方法によれば、本発明の KB-1111 株又は／および KB-1122 株を有効成分として植物の種子処理または土壌処理に用いることにより、土壌病害を防除でき、かつ植物の生長を促進させることができる。また、土壌生物叢破壊や環境に与える影響が少ない。

微生物への言及

(1) 寄託機関：通商産業省工業技術院生命工学技術研究所

住所：日本国茨城県つくば市東 1 丁目 1 番 3 号

寄託日：昭和 63 年 2 月 16 日

受託番号：FBRM BP-1738

(2) 寄託機関：通商産業省工業技術院生命工学技術研究所

住所：日本国茨城県つくば市東 1 丁目 1 番 3 号

寄託日：昭和 63 年 2 月 16 日

受託番号：FERM BP-1739

請 求 の 範 囲

1. バチルス ズブチルス sp. KB-1111 (Bacillus subtilis KB-1111) 株 (FERM BP-1738) 及び／またはバチルス ズブチルス sp. KB-1122 (Bacillus subtilis KB-1122) 株 (FERM BP-1739) を植物種子または土壌に処理することを特徴とする植物病害の防除方法。

2. バチルス ズブチルス sp. KB-1111 (Bacillus subtilis KB-1111) 株 (FERM BP-1738) 及び／またはバチルス ズブチルス sp. KB-1122 (Bacillus subtilis KB-1122) 株 (FERM BP-1739) を植物種子または土壌に処理することを特徴とする植物生長促進方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/01002

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ A01N63/00, A01N63/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A01N63/00, A01N63/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
WPI (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 2-209803, A (Kureha Chemical Industry Co., Ltd.), 21 August, 1990 (21.08.90) (Family: none)	1, 2
Y	WO, 97/24433, A1 (THE UNITED STATES OF AMERICA, represented by THE SECRETARY OF AGRICULTURE), 10 July, 1997 (10.07.97) & US, 5994117, A	1, 2
Y	JP, 9-2911, A (Yuukishitsu Hiryo Seibutsu Kassei Riyou Gijutsu Kenkyu Kumiai), 07 January, 1997 (07.01.97) (Family: none)	1, 2
Y	JP, 8-175919, A (Idemitsu Kosan Co., Ltd.), 09 July, 1996 (09.07.96) (Family: none)	1, 2

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
16 May, 2000 (16.05.00)Date of mailing of the international search report
06.06.00Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ¹ A01N63/00, A01N63/02		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ¹ A01N63/00, A01N63/02		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
WPI (DIALOG)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 2-209803, A (呉羽化学工業株式会社) 21. 8月. 1990 (21. 08. 90) (ファミリーなし)	1, 2
Y	WO, 97/24433, A1 (THE UNITED STATES OF AMERICA, represented by THE SECRETARY OF AGRICULTURE) 10. July. 1977 (10. 07. 97) &US, 5994117, A	1, 2
Y	JP, 9-2911, A (有機質肥料生物活性利用技術研究組合) 7. 1月. 1997 (07. 01. 97) (ファミリーなし)	1, 2
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	16. 05. 00	国際調査報告の発送日
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 原 健司 印 4H 7915 電話番号 03-3581-1101 内線 3443

C (続き). 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 8-175919, A (出光興産株式会社) 9. 7 月. 1996 (09. 07. 96) (ファミリーなし)	1, 2